Arak Medical University Journal (AMUJ)
2015; 18(95): 41-49 *Original Article*

Variability of antioxidant defense enzymes in primary angle closure glaucoma patients in comparison with healthy subjects

Shahsavari G[1], Mohammad pour Konani A[2], Miraftabi A[3*]

1- Department of Clinical Biochemistry, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
2- Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
3- Glaucoma Research Center, Hazrat Rasool Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 17 Nov 2014, Accepted: 7 Jan 2015

Abstract

Background: Oxidative stress and antioxidant status may be associated with glaucomatous damage.

The purpose of this study was comparison of the serum antioxidant status between primary angle closure glaucoma patients and healthy subjects.

Materials and Methods: In this case- control study 66 primary angle closure glaucoma patients and 80 controls were enrolled. Peripheral blood sample obtained from patients .Superoxide dismutase(SOD) was assayed by inhibition the rate of adrenochrome formation. Catalase (CAT) was evaluated by decrease of H_2O_2 absorbance. Glutathione peroxidase (GPx) and Glutathione reductase (GR) were determined following NADP oxidation or reduction. Glutathione S-transferase (GST) was measured by increase in the absorbance of CDNB and glutathione conjugation.

Results: Antioxidant defense enzymes were significantly decreased in glaucoma patients over those of control groups. CAT ($p<0.006$), SOD ($p<0.020$) and GPX ($p<0.004$). A relative insignificant decrease of GR and GST activities was observed in glaucoma patients compared with healthy subjects.

Conclusion: The present study supports the hypothesis that oxidative stress is an important factor in the pathogenesis of glaucoma. Although primary angle closure glaucoma has an anathomical basis but decrease in antioxidant defense enzymes activities may have a role in pathogenesis of this type of glaucoma.

Keywords: Antioxidant Enzymes, Primary Angle Closure Glaucoma, Oxidative Stress

*Corresponding Author:
Address: Eye Research Center, Rasoul Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Email: arezoomiraftabi@yahoo.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 13:14 +0330 on Monday November 20th 2017

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 13:14 +0330 on Monday November 20th 2017

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۸، شماره ۲ (شماره پیاپی۹۵)، اردیبهشت ۱۳۹۴، ۴۹-۴۱

تغییرات آنزیم‌های دفاع آنتی اکسیدان در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد سالم

غلامرضا شهسواری[۱]، اصغر محمدپور کونانی[۲]، آرزو میر آفتابی[۳*]

۱ - استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۲ - کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۳ – استادیار، مرکز تحقیقات گلوکوم، بیمارستان حضرت رسول، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: استرس اکسیداتیووضعیت آ نتی اکسیدانی سرمی ممکن است در شکل‌گیری و آسیب‌زایی بیماری گلوکوم موثر باشد .تغییر پروفایل اکسیدان/ آنتی اکسیدان سرمی در پاتولوژی‌های چشمی گزارش شده است. این مطالعه جهت ارزیابی مقایسه‌ای تغییرات فعالیت آنزیم‌های دفاع آنتی اکسیدان در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته و افراد سالم صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع مورد- شاهدی و مشتمل بر ۶۶ بیمار مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته و۸۰ فرد گروه کنترل بود.نمونه خون محیطی از بیماران گرفته شد. آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، به واسطه مهار میزان تشکیل آدرنوکروم مورد سنجش قرار گرفت. کاتالاز (CAT) از طریق کاهش جذب H_2O_2 ارزیابی شد. گلوتاتیون پراکسیداز(GPX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) متعاقب اکسیداسیون یا احیاء NADP تعیین گردید. گلوتاتیون S – ترانسفراز (GST) به واسطه افزایش جذب کنژوگه شدن CDNB با گلوتاتیون اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در زمینه فعالیت آنزیم‌های دفاع آنتی اکسیدان گلبول‌های قرمز خون، یک کاهش معنی‌دار در CAT($p<۰/۰۰۶$)، SOD ($p<۰/۰۲۰$) و GPX ($p<۰/۰۰۴$) بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد گروه کنترل مشاهده شد. فعالیت GR و GST بیماران مبتلا به گلوکوم در قیاس با افراد سالم از کاهش نسبی معنی‌داری برخوردار نبود.

نتیجه‌گیری:این مطالعه فرضیه نقش مهم استرس اکسیداتیو در بیماری گلوکوم را تایید میکند.گرچه گلوکوم زاویه بسته بیشتریک اساس اناتومیک دارد اما کاهش قابل ملاحظه فعالیت آنزیم‌های دفاع آنتی اکسیدان میتواند نقشی در ایجاد این نوع گلوکوم داشته باشد.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدان، گلوکوم اولیه زاویه بسته، استرس اکسیداتیو

***نویسنده مسئول:** تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان حضرت رسول، مرکز تحقیقات گلوکوم

Email: miraftaboo@yahoo.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 13:14 +0330 on Monday November 20th 2017

مقدمه

استرس اکسیداتیو در گسترش آسیب‌زایی بسیاری از بیماری‌ها دخالت دارد. استرس اکسیداتیو به واسطه تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن نقش عمده‌ای در بروز و گسترش بیماری‌های چشمی نظیر کاتاراکت، رتینوپاتی، گلوکوم اولیه زاویه باز و گلوکوم اکسفلیاتیو کاذب دارد. بیماری گلوکوم یا آب سیاه، یک بیماری چندعاملی بوده که ناشی از مسایل ژنتیکی، محیطی یا ثانویه دیگر بیماری‌های چشمی است و گستره‌ای از آسیب‌های مکانیکی منتهی به افزایش فشار درون چشم را در برمی‌گیرد. گلوکوم به گروه ناهمگنی از بیماری‌های چشم اطلاق می‌گردد که با کاپینگ سر عصب بینایی، تخریب این عصب و طرح خاصی از کاهش میدان دید ظاهر می‌شود. گلوکوم به عنوان شایع‌ترین بیماری نوروپاتیک بینایی در انسان و دومین عامل نابینایی در سراسر جهان شناخته شده است. این بیماری می‌تواند به انواع گلوکوم اولیه،ثانویه و پیشرفته تقسیم شود. سه زیر گروه اصلی گلوکوم شامل گلوکوم اولیه زاویه باز، گلوکوم اولیه زاویه بسته و گلوکوم وراثتی است. شواهد رو به افزایش، بیان‌گر نقش کلیدی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن ناشی از استرس اکسیداتیو و یا ضعف سیستم دفاع آنتی اکسیدان در پاتوژنز بیماری گلوکوم می‌باشد(۱).

رادیکال‌های آزاد به طور مداوم در نتیجه فرآیندهای طبیعی متابولیک و در تعادل با تحریکات محیطی در بدن تولید می‌شوند. استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل بین سیستم‌های تولید کننده و به دام اندازنده رادیکال آزاد بوده که با افزایش تولید رادیکال آزاد یا کاهش فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی و یا هر دو همراه می‌باشد. سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، به دو دسته تقسیم‌بندی می‌شود: ۱- آنتی اکسیدان‌های آنزیمی، ۲- آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی. دفاع آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی، شامل مولکول‌های کوچک نظیر ویتامین E، اسکوربات و گلوتاتیون می‌باشد و دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی سلول مشتمل بر سوپراکسید دیسموتاز(SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، گلوتاتیون ردوکتاز(GR) و گلوتاتیون S - ترانسفراز (GST) است(۲، ۳).

گلوکوم اولیه زاویه بسته حاد هنگامی رخ می‌دهد که برجستگی به اندازه‌ای در عنبیه ایجاد شود که باعث انسداد زاویه اتاق قدامی توسط عنبیه محیطی شود. این انسداد موجب کاهش خروج مایع زلالیه و افزایش سریع فشار داخل چشم می‌شود که با ایجاد درد، قرمزی و تاری دید همراه است(۴). افزایش فشارداخل چشم یک عامل خطر برای ابتلا به بیماری گلوکوم است که می‌تواند در نتیجه آسیب اکسیداتیو ناشی از گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن ایجاد شود(۵). تغییرات عروقی که اغلب در گلوکوم دیده می‌شود، در نتیجه آسیب اکسیداتیو ناشی از افزایش استرس اکسیداتیوهم در شبکه ترابکولار و هم در سلول‌های شبکه صورت می‌گیرد(۶). شبکه ترابکولار از مکانیسم‌های موثری جهت برداشتن گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن نظیر غلظت‌های بالای گلوتاتیون احیاء، و فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز برخورد از است(۷). علاوه بر این بافت‌های دیگر نیز ممکن است برای حذف گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در مایع زجاجیه شرکت کنند. گلوتاتیون پراکسیداز در مایع زجاجیه یافت شده و اعتقاد براین است که منشا ژن عمدتا اپیتلیوم سیلیاری است. شواهد آزمایشگاهی موجود قویاً نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو یک نقش کلیدی در تغییرات آسیب زایی شبکه ترابکولار بیماران گلوکوم دارد(۸). پتانسیل تام واکنشگر آنتی اکسیدان در مایع زجاجیه بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه باز در قیاس با بیماران مبتلا به کاتاراکت به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد، در حالی که فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در مایع زجاجیه بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه باز در قیاس با این بیماران افزایش پیدا می‌کند(۹). هم‌چنین یک کاهش معنی‌دار در شاخص‌های ظرفیت تام آنتی اکسیدان پلاسما و مالون دی آلدئید به عنوان نشان‌گر پراکسیداسیون لیپیدی در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه باز در مقایسه با افراد کنترل مشاهده می‌شود، این در حالی است که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 13:14 +0330 on Monday November 20th 2017

باز در قیاس با بیماران مبتلا به گلوکوم اکسفلیاتیو کاذب و گروه کنترل به طور معنی دار افزایش می‌یابد(۱۰). به علاوه تغییرات گلوتاتیون و فعالیت آنزیم‌های وابسته در لنز، قرنیه، رتین و دیگر بافت‌های چشم در پیری، کاتاراکت و دیابت گزارش شده است(۱۱).

از این رو نتایج مطالعات متعدد یاد شده در زمینه تغییر پروفایل اکسیدان- آنتی اکسیدان درپاتولوژی‌های چشمی، به ویژه در خصوص بیماری گلوکوم اولیه زاویه باز انتشار یافت. با توجه به مکانیسم آسیب‌زایی که به واسطه اختلال آناتومیک منجر به افزایش فشار داخل چشم و آسیب عصب بینایی در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته می‌شود، این ارزیابی جهت بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های دفاع آنتی اکسیدان مشتمل بر SOD، GPX، CAT، GR و GST در گلبول‌های قرمز بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد سالم صورت می‌گیرد که در سمیت زدایی و خنثی سازی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و رادیکال‌های آزاد مخرب نقش دارند.

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه

این مطالعه از نوع مورد- شاهدی است و براساس بررسی متون صورت گرفته است. با تعیین مقدار α برابر با ۰/۰۵ ، مقدار β برابر با ۰/۲ (توان ۸۰ درصد) و رابطه $n=[(Z_{1-(\alpha/2)} +Z_{1-\beta})^2 (S_1^2+S_2^2)]/d^2$ ، که S انحراف معیار گروه‌های مورد مطالعه و d حداقل اختلاف مورد انتظار برای معنی‌دار بودن فاکتور مورد اندازه‌گیری است، حداقل نمونه مورد نیاز ۶۲ مورد محاسبه گردید(۹).

جمعیت مورد مطالعه در این بررسی تعداد ۶۶ نفر بیمار مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته مشتمل بر ۴۶ درصد مرد و ۵۴ درصد زن بود که به بخش چشم بیمارستان‌های فارابی و رسول اکرم (ص) تهران مراجعه کرده بودند. هم‌چنین ۸۰ فردسالم به عنوان گروه کنترل (۴۷ درصد مرد) و (۵۳ درصد زن) تحت بررسی قرار گرفتند. میانگین سنی بیماران مبتلا به گلوکوم ۱۱/۷±۵۸/۴ سال و میانگین سنی افراد سالم ۱۰/۵±۵۲/۵ سال بود. ۱۱ درصد از بیماران مبتلا به گلوکوم و ۶ درصد از افراد سالم سابقه مصرف سیگار داشتند. گروه بیماران و گروه کنترل از لحاظ سن، جنس، نژاد (ایرانی بودن) و وضعیت مصرف سیگار کاملاً با یکدیگر همسان شدند. معیار ورودی گروه کنترل به این مطالعه در برگیرنده افرادی بود که فاقد گلوکوم یا هر نوع اختلالی بودند که به نفع بیماری گلوکوم است، نظیر بیماری‌های مرتبط با چشم، رتین، عدسی و مشکلات مرتبط با بینایی. هم‌چنین افراد گروه کنترل می‌بایست فاقد بیماری سیستمیک نظیر دیابت شیرین فشار داخلی چشم کمتر از ۲۱ میلی‌متر جیوه و دارای حدت بینایی بیش از ۲۰/۴۰ باشند. گروه کنترل از نظر سن و جنس با گروه بیماران همسان بود. از تمامی افراد شرکت کننده در این مطالعه قبل از ورود به بررسی و گرفتن نمونه خون، رضایت‌نامه کتبی و آگاهانه اخذ گردید. بر اساس رای کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه علوم پزشکی لرستان با کد اخلاقی ۲۰۰/۴۱۵۳۳ و مشروط به اخذ رضایت کتبی و آگاهانه از افراد مورد مطالعه و حفظ راز داری، با انجام این طرح موافقت شد.

جمع‌آوری نمونه

۵ میلی لیترخون وریدی از هر یک از افراد مورد مطالعه به لوله حاوی هپارین انتقال داده شد و پس از سانتریفوژ نمودن، پلاسمای آن جدا گردید. پلاسما به سرعت به فریزر ۷۰ –درجه سانتی‌گراد منتقل شده و تا زمان انجام آزمایش در آن نگهداری شد. اریتروسیت‌های حاصل، دو بار با بافر فسفات حاوی کلرید سدیم با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد(یک حجم بافر فسفات با PH= ۷/۴ به اضافه ۹ حجم کلرید سدیم ۰/۱۵ مولار) شسته شدند. این اریتروسیت‌های شسته شده پس از سانتریفوژ نمودن بلافاصله به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند.

تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم CAT در گلبول‌های قرمز با استفاده از روش به کار گرفته شده توسط جوآنسون و بارک سنجیده می‌شود که در این روش سرعت تجزیه سوبسترای H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 13:14 +0330 on Monday November 20th 2017

اندازه‌گیری می‌شود. در این روش هیدروژن پراکساید به وسیله کاتالاز به آب و اکسیژن تجزیه می‌گردد(۱۲). پس از محاسبه غلظت هموگلوبین نمونه‌های همولیزات (گرم بر میلی‌لیتر)، فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت «ثابت سرعت واکنش بر گرم هموگلوبین»(K/gr Hb) بیان گردید.

تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم SOD به شیوه آنزیمی و براساس روش آرتور و بوین مطابق با دستورالعمل کیت شرکت راندوکس ساخت کشور انگلستان انجام شد. در این روش سرعت احیاء سیتوکروم c به وسیله رادیکال‌های سوپراکسید، که از طریق سیستم گزانتین – گزانتین اکسیداز تولید می‌شوند در طول موج ۵۵۰ نانومتر ثبت می‌گردد. SOD موجود در نمونه، رادیکال‌های سوپراکسید را تجزیه نموده و سرعت احیاء سیتوکروم C را کاهش می‌دهد. یک واحد SOD میزان آنزیمی است که قادر است قدرت احیاء سیتوکروم C را به میزان ۵۰ درصد (تحت شرایط ویژه) کاهش دهد. غلظت هموگلوبین نمونه‌های همولیزات(گرم بر میلی‌لیتر) و فعالیت آنزیم SOD برحسب واحد بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد و سپس فعالیت آنزیم هر نمونه بر اساس واحد در گرم هموگلوبین محاسبه گردید(۱۳).

تعیین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GPX به صورت آنزیمی، ازطریق روش ولنتاین و پاگلیا و با استفاده از کیت شرکت راندوکس ساخت کشور انگلستان، مطابق دستور العمل کیت انجام شد. در این روش، سرعت اکسیداسیون گلوتاتیون به وسیله H_2O_2 که با گلوتاتیون پراکسیداز موجود در همولیزات کاتالیز می‌گردد سنجیده می‌شود. گلوتاتیون اکسید شده حاصل، تحت اثر آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز مجددا احیاء شده و در این حین، یک مولکول NADPH به NADP اکسیده می‌گردد. با تغییرات جذب NADPH در طول موج ۳۴۰ نانومتر می‌توان به سرعت تولید گلوتاتیون اکسیده پی‌برد(۱۴).

تعیین فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GR در گلبول‌های قرمز با روش به کار رفته توسط کارلبری و منیرویک و مطابق با دستورالعمل کیت شرکت راندوکس ساخت کشور انگلستان صورت پذیرفت. در این روش، گلوتاتیون ردوکتاز، فرم اکسید گلوتاتیون (GSSG) را ضمن اکسیداسیون NADPH به فرم احیای گلوتاتیون (GSH) تبدیل می‌کند. فعالیت کاتالیتیکی آنزیم با اکسیداسیون NADPH به $NADP^+$ که با کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر همراه است صورت می‌پذیرد(۱۵).

تعیین فعالیت آنزیم گلوتاتیون s- ترانسفراز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GST در گلبول‌های قرمز با روش به کار رفته توسط جاکوبای و مطابق با دستورالعمل کیت شرکت کایمن کمیکال ساخت کشور امریکا، صورت پذیرفت. در این سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون s- ترانسفراز به واسطه اندازه‌گیری افزایش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر در نتیجه کنژوگه شدن CDNB(۱ کلرو ۲ و ۴ دی نیتروبنزن) با گلوتاتیون احیاء انجام پذیرفت(۱۶).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. ارزیابی مقایسه میانگین متغیرهای کمی بین گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون تی استیودنت مستقل صورت پذیرفت. تمام آزمون‌ها به صورت دو طرفه و با سطح اطمینان ۹۵ درصد ارزیابی شدند. مقادیر $p \leq ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز خون، به عنوان عامل خنثی کننده پراکسید هیدروژن و پراکسیدهای آلی، در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد طبیعی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. در حالی که فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز به عنوان عامل احیاء کننده کوآنزیم NADP گلبول‌های قرمز خون این بیماران در قیاس با افراد گروه کنترل کاهش نسبی

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 13:14 +0330 on Monday November 20th 2017

را نشان می‌دهد. گرچه این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست. فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان از بین برنده پراکسید هیدروژن و سوپراکسید دیسموتاز به عنوان آنزیم سمیت‌زدای یون سوپر اکسید در گلبول‌های قرمز بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد سالم به طور معنی‌داری پایین‌تر بود. فعالیت آنزیم گلوتاتیون S- ترانسفراز گلبول‌های قرمز به عنوان عامل سمیت زدایی رادیکال‌های آزاد و گزنوبیوتیک‌ها در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد سالم، یک کاهش نسبی را نشان می‌دهد. هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست(جدول ۱).

جدول ۱. مقادیر فعالیت آنزیم های دفاع آنتی اکسیدان در گلبولهای قرمز گروه بیماران مبتلا به گلوکوم زاویه بسته و گروه افراد سالم

متغیرهای کمی	گروه بیماران گلوکوم(۶۶نفر)	گروه افراد سالم(۸۰نفر)	p
کاتالاز(K/gr Hb)	۹/۴۸±۳/۸۸	۱۱/۶۵±۳/۷۵	۰/۰۰۶
سوپر اکسید دیسموتاز(U/gr Hb)	۱۰۵۸/۲۹±۳۵۳/۰۵	۱۲۴۰/۸۹±۴۲۴/۱۱	۰/۰۲۰
گلوتاتیون پراکسیداز (µmol/gr Hb)	۵۱/۰۹±۲۷/۹۶	۶۸/۸۳±۳۷/۶۲	۰/۰۰۴
گلوتاتیون ردوکتاز(U/gr Hb)	۷/۲۴±۲/۴۱	۸/۲۰±۲/۵۴	۰/۶۲
گلوتاتیون S- ترانسفراز (µmol/gr Hb)	۶/۵۷±۲/۸۸	۷/۸۵±۲/۳۴	۰/۱۱۴

فعالیت آنزیم‌ها به صورت میکرومول در دقیقه بر گرم پروتئین هموگلوبین (µmol/gr Hb)، ثابت سرعت واکنش بر گرم هموگلوبین (K/gr Hb) و یا واحد بین‌المللی بر گرم پروتئین هموگلوبین (U/gr Hb) محاسبه شده است. مقادیر متغیرها براساس میانگین± انحراف معیار بیان می شود.

بحث

در مطالعه حاضر، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز در گلبول‌های قرمز بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش دارد. رادیکال‌های سوپر اکسید از طریق آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به دو ترکیب با قدرت اکسید کنندگی کمتر، یعنی پراکسید هیدروژن و اکسیژن تبدیل می‌شوند. کاتالاز یک پروتئین دارای هم است که پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می کند. این یافته‌ها بیان‌گر یک کاهش قابل ملاحظه دفاع آنزیمی آنتی اکسیدان خنثی کننده پراکسید هیدروژن و سوپر اکسید اکسیژن در سلول است که متعاقب آن زمینه ساز افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشد.

از دیگر یافته‌های مطالعه حاضر، کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد طبیعی است. در حالی که فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز این بیماران در قیاس با افراد گروه کنترل کاهش نسبی غیر معنی‌داری را نشان می‌دهد. اکی والان احیاء NADPH حاصل از راه پنتوز فسفات در گلبول‌های قرمز به کمک آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز، شکل اکسید شده گلوتاتیون را به شکل احیاء شده آن تبدیل می کند. کوآنزیم این آنزیم یک فلاو پروتئین حاوی فلاوین آدنین دی نوکلئوتید (FAD) است. گلوتاتیون احیاء شده نیز متعاقبا در واکنشی به کمک آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و در حضور عنصر سلنیوم باعث تجزیه H_2O_2 و پراکسیدهای آلی موجود در فاز چربی (محصول سوپراکسید دیسموتاز) و خنثی سازی آنها می گردد. این واکنش‌ها برای سلول‌ها به ویژه گلبول‌های قرمز به عنوان یکی از سدهای دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی بسیار موثر در تجزیه گونه‌های پراکسید اکسیژن، از اهمیت زیادی برخورد دارند، زیرا گونه‌های پراکسید هیدروژن می‌توانند با افزایش سرعت اکسیداسیون عمر سلول را کاهش دهند که این مسئله بیان‌گر کاهش چشم‌گیر دفاع

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 13:14 +0330 on Monday November 20th 2017

آنتی اکسیدان آنزیمی در اثر کاهش فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در خنثی سازی گونه‌های پراکسید در فاز آبی و چربی بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته است(۱۷).

در راستای نتایج حاصل از این مطالعه، ماجستریک و همکاران، در مطالعه‌ای واقع در کشور لهستان یک کاهش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در بیماران مبتلا به گلوکوم در قیاس با نمونه‌های کنترل گزارش نمودند(۱۸). هم‌چنین در این راستا، نتایج پژوهش انژین و همکاران، در کشور ترکیه اشاره به کاهش معنی‌دار فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گلبول‌های قرمز بیماران مبتلا به گلوکوم در مقایسه با افراد سالم است(۱۹).

بررسی‌های انتشار یافته محققان بر روی آنزیم‌های آنتی اکسیدان موجود در مایع زجاجیه بیماران مبتلا به گلوکوم در قیاس با بیماران مبتلا به کاتاراکت، بیان‌گر کاهش معنی‌دار فعالیت این سیستم دفاع آنتی اکسیدانی می‌باشد. غانم و همکاران، در یک بررسی در کشور مصر اظهار داشتند که فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در مایع زجاجیه بیماران گلوکوم اولیه زاویه باز در قیاس با گروه بیماران مبتلا به کاتاراکت به طور معنی‌داری بالاتر بود، ولیکن تغییر معنی‌داری در فعالیت کاتالاز مایع زجاجیه بیماران گروه گلوکوم و گروه کاتاراکت یافت نشد(۲۰). هم‌چنین نتایج پژوهش گویال و همکاران، در کشور هندوستان به افزایش معنی‌دار سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در مایع زجاجیه بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه باز و بسته در قیاس با بیماران مبتلا به کاتاراکت اشاره دارد. لیکن در این قیاس تغییر معنی‌داری در فعالیت کاتالاز مشاهده نگردید(۲۱). به علاوه نتایج پژوهش فریرا و همکاران، در کشور آرژنتین افزایش معنی‌داری را در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در مایع زجاجیه بیماران گلوکوم در قیاس با بیماران کاتاراکت نشان داد، ولی در فعالیت کاتالاز بین دو گروه تغییر معنی‌داری مشاهده نشد(۹). گزارشات حاکی است که استرس اکسیداتیو به عنوان یک عامل خطر جهت آسیب‌زایی بیماری گلوکوم اولیه زاویه باز مطرح است.

نتایج انتشار یافته مطالعات محققان اشاره‌گر نقش استرس اکسیداتیو به عنوان یک عنصر مهم در تخریب سلول‌های گانگلیونی به وسیله گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در بیماری گلوکوم است. این مطالعات نشان می‌دهد که افزایش گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و هم‌چنین کاهش فعالیت دفاع آنتی اکسیدان نقش آسیب‌زایی مهمی در این زمینه ایفا می‌کنند(۲۲). از نظر فیزیوپاتولوژی، گلوکوم با افزایش فشار داخل چشم، فرورفتگی سر عصب اپتیک و از دست دادن میدان بینایی مشخص می‌شود. فشار داخل چشم با میزان تولید مایع زلالیه و مقاومت در برابر خروج آن از چشم مشخص می‌شود. بنابراین افزایش فشار داخل چشم زمانی روی می‌دهد که تولید مایع زلالیه بیش از مقدار معمول باشد و یا در برابر خروج آن مانعی وجود داشته باشد. اگر این سد مانع رسیدن مایع زلالیه به شبکه ترابکولر شود، گلوکوم را زاویه بسته و در صورتی که ممانعتی در راه‌یابی مایع به شبکه ترابکولر ایجاد نکند آن را زاویه باز می‌نامند(۲۳).

آنزیم‌های گلوتاتیون S ترانسفراز در شکل‌گیری و عمل سیستم دفاعی در مقابل مواد سمی نقش عمده‌ای به عهده دارند و در واقع به عنوان فاز دوم آنتی اکسیدان مواجه با استرس اکسیداتیو محسوب می‌شوند. این آنزیم‌ها اتصال گلوتاتیون را از طریق گروه سولفیدریل به مراکز الکتروفیلیک در محدوده وسیعی از سوبستراها کاتالیز می‌کنند(۲۴). در این مطالعه تغییرات کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون S - ترانسفراز در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد کنترل معنی‌دار نبود، گرچه کاهش فعالیت این آنزیم به صورت نسبی مشاهده گردید. گلوتاتیون S- ترانسفراز متعلق به گروه بزرگی از آنزیم‌های سمیت زدا بوده که در سلول به واسطه گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن تنظیم می‌شود و گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن آن را به صورت یک واکنشی سازشی القا می‌کنند. از این رو این

آنـزیم متابولیـت‌هـای سـمی تولیـد شـده بـه وسـیله اسـترس اکسیداتیو را خنثی می‌نماید(۲۵).

نتیجه گیری

در هر صورت، هنگامی که تعادل بین اکسیدان‌ها وآنتی اکسیدان‌ها بر هم خورد، به نحوی که سبب تخلیه وکمبود آنتی اکسیدان و یا تراکم زیاد گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن شود، استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد. کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد طبیعی، بیان کننده یک کاهش قابل ملاحظه در این سیستم دفاع آنتی اکسیدان آنزیمی مهم سلولی می‌باشد. از طرف دیگر کاهش فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته، به استرس اکسیداتیو کنترل نشده و دفاع معیوب و غیرطبیعی سیستم مقابله با استرس اکسیداتیو دارد. بنابراین استرس اکسیداتیو اشاره اولیه ممکن است در پیامدهای متابولیک و آناتومیکی که منجر به افزایش آسیب عصب بینائی در گلوکوم می‌شوند، دخیل باشد. این نکته می‌تواند حتی در مورد گلوکومائی نظیر گلوکوم اولیه زاویه بسته که به نظر می‌رسد آناتومیک اولیه‌ای در مکانیسم آسیب عصب بینائی دارد، نیز صادق باشد. در نهایت نتایج نشان می‌دهد که کاهش قابل ملاحظه فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدان آنزیمی مهم سلولی در بیماران مبتلا به گلوکوم اولیه زاویه بسته در قیاس با افراد سالم، بیان‌گر یک نقش پاتولوژیکی در بیماری گلوکوم اولیه زاویه بسته است که به واسطه افزایش آسیب استرس اکسیداتیو از طریق گونه های واکنش‌گر اکسیژن صورت می‌گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی لرستان جهت انجام این طرح تحقیقاتی به شماره ۱۱۴۲ تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Sacca SC, Izzotti A, Rossi P, Traverso C. Glaucomatous outflow pathway and oxidative stress. Experimental eye research. 2007; 84(3): 389-99.
2. Engin KN. Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. Molecular vision. 2009;15:855-6.
3. Pandey KB, Rizvi SI. Biomarkers of oxidative stress in red blood cells. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2011;155(Suppl 2):131-6.
4. Izzotti A, Saccà SC, Cartiglia C, De Flora S. Oxidative deoxyribonucleic acid damage in the eyes of glaucoma patients. The American journal of medicine. 2003;114(8):638-46.
5. Moreno MC, Campanelli J, Sande P, Sáenz DA, Sarmiento MIK, Rosenstein RE. Retinal oxidative stress induced by high intraocular pressure. Free Radical Biology and Medicine. 2004; 37(6):803-12.
6. Izzotti A, Bagnis A, Saccà SC. The role of oxidative stress in glaucoma. Mutation Research/Reviews in Mutation Research. 2006; 612(2): 105-14.
7. Freedman SF, Anderson PJ, Epstein D. Superoxide dismutase and catalase of calf trabecular meshwork. Investigative ophthalmology & visual science. 1985; 26(10): 1330-5.
8. Liton PB, Gonzalez P. Stress response of the trabecular meshwork. Journal of glaucoma. 2008; 17(5):378-9.
9. Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SF. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients. American journal of ophthalmology. 2004;137(1):62-9.
10. Erdurmus M, Yagci R, Atis Ö, Karadag R, Akbas A, Hepsen IF. Antioxidant status and oxidative stress in primary open angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma. Current eye research. 2011;36(8):713-8.
11. Ganea E, Harding JJ. Glutathione-related enzymes and the eye. Current eye research. 2006;31(1):1-11.
12. Johansson LH, Borg LH. A spectrophotometric method for determination of

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 13:14 +0330 on Monday November 20th 2017

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 13:14 +0330 on Monday November 20th 2017

catalase activity in small tissue samples. Analytical biochemistry. 1988;174(1):331-6.
13. Arthur J, Boyne R. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in neutrophils from selenium deficient and copper deficient cattle. Life sciences. 1985; 36(16): 1569-75.
14. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. The Journal of laboratory and clinical medicine. 1967; 70(1): 158-69.
15. Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. Methods in enzymology. 1985; 113:484-90.
16. Jakoby WB. The glutathione S-transferases: a group of multifunctional detoxification proteins. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol. 1978; 46:383-414.
17. Riley M. Physiologic neutralization mechanisms and the response of the corneal endothelium to hydrogen peroxide. The CLAO journal: official publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc. 1989; 16(1 Suppl): S16-21; discussion S-2.
18. Majsterek I, Malinowska K, Stanczyk M, Kowalski M, Blaszczyk J, Kurowska AK, et al. Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of primary open-angle glaucoma. Experimental and molecular pathology. 2011; 90(2):231-7.
19. Engin KN, Yemişci B, Yiğit U, Ağaçhan A, Coşkun C. Variability of serum oxidative stress biomarkers relative to biochemical data and clinical parameters of glaucoma patients. Molecular vision. 2010;16:1260-1.
20. Ghanem AA, Arafa LF, El-Baz A. Oxidative stress markers in patients with primary open-angle glaucoma. Current eye research. 2010;35(4):295-301.
21. Goyal A, Srivastava A, Sihota R, Kaur J. Evaluation of oxidative stress markers in aqueous humor of primary open angle glaucoma and primary angle closure glaucoma patients. Current eye research. 2014;39(8):823-9.
22. Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. Progress in retinal and eye research. 2006;25(5):490-513.
23. Li G, Luna C, Liton PB, Navarro I, Epstein DL, Gonzalez P. Sustained stress response after oxidative stress in trabecular meshwork cells. Molecular vision. 2007;13:2282-3.
24. Yildirim Ö, Ateş NA, Tamer L, Öz Ö, Yilmaz A, Atik U, et al. May glutathione S-transferase M1 positive genotype afford protection against primary open-angle glaucoma? Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology. 2005; 243(4): 327-33.
25. Hayes J, Strange R. Potential contribution of the glutathione S-transferase supergene family to resistance to oxidative stress Free Radic Res 1995; 22: 193–207.